

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича

Архив журнала

## Вопросы медицинской химии

*ISSN 0042-8809*

1985

**Внимание!** Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

## Voprosy meditsinskoj khimii

*ISSN 0042-8809*

1985

**Attention!** OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ XXXI

ВЫПУСК 5

СЕНТЯБРЬ — ОКТЯБРЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ  
МЕДИЦИНСКОЙ  
ХИМИИ



МОСКВА. МЕДИЦИНА. 1985



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. И. МАЗУРОВ (зам. главного редактора), Т. Т. БЕРЕЗОВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ (ответственный секретарь), В. А. САКС, С. Е. СЕВЕРИН, В. Б. СПИРИЧЕВ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)	ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)
БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)	ТАРАҚУЛОВ Я. Х. (Ташкент)
БЫЧКОВ С. М. (Москва)	ТЯХЕПЫЛЬД Л. Я. (Тарту)
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)	УТЕВСКИЙ А. М. (Харьков)
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)	ШАПОТ В. С. (Москва)
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)	ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ПАСХИНА Т. С. (Москва)	ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)

Адрес редакции журнала:

Москва, Солянка, 14

АМН СССР

Тел. 297-16-44

Зав. редакцией Л. А. Фирсова

1983

17. *Ellman G. L., Courtney K., Andres V. et al.* — *Biochem. Pharmacol.*, 1961, vol. 7, p. 88—95.
18. *Flamm M., Schachter D.* — *Nature*, 1982, vol. 298, p. 290—292.
19. *Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G.* — *J. biol. Chem.*, 1957, vol. 226, p. 497—509.
20. *Fröman G., Accvedo F., Hjerten S.* — *Prepar. Biochem.*, 1980, vol. 10, p. 59—67.
21. *Leongard H., Arntz H.* — *Klin. Wschr.*, 1978, Bd 56, S. 271—273.
22. *Shiga T., Maeda N., Suda T. et al.* — *Experientia (Basel)*, 1980, vol. 36, p. 127—128.
23. *Stewart J. C. M.* — *Analyt. Biochem.*, 1980, vol. 104, p. 10—14.
24. *Wieth J., Brahm J., Funder J.* — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1980, vol. 341, p. 394—418.
25. *Yeagle P. L.* — *Biochim. biophys. Acta*, 1983, vol. 727, p. 39—44.

Поступила 12.06.84

ACTIVITY OF MEMBRANE-BOUND ENZYMES, PATTERNS OF METABOLISM IN CYTOPLASM AND SOME PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF ERYTHROCYTES LOADED WITH CHOLESTEROL

*A. D. Taganovich, A. J. Oletsky, V. K. Kuchta*

Chair of Bioorganic and Biological Chemistry, Medical School, Minsk

Activity of membrane-bound enzymes, passive penetration of ions in dose-dependent loading with cholesterol, effect of cholesterol high concentrations on the metabolic patterns in cytosol, viscosity of cell suspension were studied in erythrocytes. Passive cotransport of H<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> ions via erythrocyte membrane was increased with augmentation in viscosity of the cell suspension. After loading with cholesterol activity of acetylcholinesterase was increased while ATPase and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase activities were decreased. The alteration in the enzymatic activity occurred on those sides of the membranes, where these enzymes were localized. Activity of lactate dehydrogenase was decreased in cytoplasm of erythrocytes. The alterations detected may be important in development of ischemic syndrome in hyperlipoproteinemia.

УДК 616.24-008.934.54-02:[577.175.6+615.832.9]-092.9

*Т. Ю. Липатова, Г. В. Ананьева, Е. Г. Рябцева, В. В. Поступаев*

**ЗНАЧЕНИЕ ПОЛОВЫХ СТЕРОИДОВ В РЕГУЛЯЦИИ  
УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА В ЛЕГКИХ КРЫСЫ ПРИ ОБЩЕМ  
ОДНОКРАТНОМ ОХЛАЖДЕНИИ ОРГАНИЗМА**

Кафедра биоорганической и биологической химии и ЦНИЛ Хабаровского медицинского института

Наличие в легких цитоплазматических рецепторов андрогенов, эстрогенов и гестагенов [14, 16, 21], интенсивный метаболизм половых стероидов в этом органе [19, 20, 13] свидетельствуют о возможном их участии в регуляции метаболизма легочной ткани как в физиологических условиях, так и при патологии. Это подтверждается данными о выраженных половых различиях частоты развития заболеваний легких и изменении продукции андрогенов и эстрогенов при этих состояниях [6, 9].

Несмотря на то что охлаждение является одним из факторов риска развития острых и обострения хронических неспецифических заболеваний легких, особенности энергетического и пластического обмена этой ткани при общем охлаждении организма не расшифрованы и в литературе имеются немногочисленные сведения по этому вопросу [8, 10]. Роль половых стероидов в формировании

приспособительных метаболических сдвигов в легких при действии холодового фактора не выяснена. Колебания уровня половых стероидов в крови при охлаждении [7] могут, по-видимому, развиться на интенсивности метаболизма легочной ткани и ее резистентности к действию патогенных факторов. Целью настоящей работы было выяснение особенностей обмена углеводов в легких в условиях однократного общего охлаждения при различной обеспеченности организма половыми гормонами.

**Методика**

Исследования проводили на белых крысах обоего пола массой 180—200 г. Охлаждение вызывали однократно, помещая животных в холодильную камеру микроома-криостата на 3 ч при температуре воздуха —10 °С. Животных декапитировали на высоте охлаждения. Гормоны вводили подкожно в течение 3 сут до исследования: эстрадиола дипропио-

Показатели углеводного обмена в легком крыс-самцов при однократном охлаждении ( $M \pm m$ )

Группа крыс	Концентрация, мкмоль/г				Активность фермента, мкмоль на 1 г белка в 1 мин								
	гликоген	глюкоза	пируват	лактат	Г-6-ФДГ	ГА-3-ФДГ	ПК	Г-3-ФДГ	ЛДГ	НАД-МДГ	НАДФ-МДГ	АЛАТ	АСАТ
Контроль	0,75±0,11	1,32±0,14	0,26±0,02	3,59±0,17	33,3±1,35	37,3±6,86	140±20,5	4,05±0,34	450±31	412±40,4	5,40±0,27	52,6±4,89	76,0±5,1
Охлаждение	0,49±0,08	4,34±0,43*	0,24±0,03	2,88±0,22*	38,2±1,77*	33,0±5,57	124±11,2	3,16±0,25*	384±14	1189±23,1*	4,74±0,24	22,9±4,02*	56,9±3,47*

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2: звездочкой отмечены достоверные различия по сравнению с контролем ( $P < 0,05$ ).

Показатели углеводного обмена в легком кастрированных крыс-самцов при охлаждении и введении гормонов ( $M \pm m$ )

Группа крыс	Концентрация, мкмоль/г				Активность ферментов, мкмоль на 1 г белка в 1 мин								
	гликоген	глюкоза	пируват	лактат	Г-6-ФДГ	ГА-3-ФДГ	ПК	Г-3-ФДГ	ЛДГ	НАД-МДГ	НАДФ-МДГ	АЛАТ	АСАТ
Ложная операция (контроль)	0,50±0,06	1,10±0,12	0,34±0,03	2,48±0,32	34,5±1,82	47,0±3,28	122±6,22	2,79±0,27	438±40	503±43,8	6,61±0,52	38,7±6,59	88,1±11,6
Кастрация	1,03±0,05*	1,07±0,14	0,29±0,03	3,79±0,27*	36,4±2,86**	45,7±2,33	190±9,84*	3,58±0,36	495±54,3	362±36,1*	6,38±0,31	54,1±7,36	66,1±9,47
Кастрация + охлаждение	1,19±0,26	1,13±0,31	0,30±0,03	3,99±0,53	29,3±2,08**	39,2±4,11	123±19,4**	3,61±0,34	418±46,1	220±21**	4,57±0,29**	49,7±10,3	85,1±9,11
Кастрация + эстрадиол + охлаждение	0,73±0,14	1,02±0,25	0,30±0,02	3,47±0,37*	34,2±3,01	32,8±4,78	142±11,3	3,22±0,22	500±38,3	329±14	5,71±0,33	62,0±10,7	61,3±7,30
Кастрация + тестостерон + охлаждение	0,33±0,07	0,63±0,11	0,33±0,06	3,10±0,38	30,0±1,57	26,1±3,89**	147±24	3,04±0,33	480±22	312±20,1	5,70±0,31	41,3±5,6	69,4±13,3
Кастрация + прогестерон + охлаждение	1,00±0,11	1,98±0,23***	0,35±0,01	5,15±0,36	—	28,0±3,38	154±15	3,08±0,29	—	—	—	—	—

П р и м е ч а н и е. Двумя звездочками обозначены достоверные различия по сравнению с показателями группы «Кастрация», тремя — то же группы «Кастрация + охлаждение».

нат из расчета 1 мг/кг, прогестерон и тестостерона-пропионат — по 10 мг/кг в сутки. Влияние охлаждения изучали в трех сериях опытов: на I серии опыты проводили с самцами, во II — с самками в стадии эструс полового цикла, в III — с кастрированными самками с введением половых гормонов или без их введения. Контролем в первых двух сериях служили интактные животные, в III серии — ложнопериованные крысы, которым в течение 3 сут до исследования подкожно вводили оливковое масло из расчета 1 мл/кг. В каждой опытной группе было 8—10 крыс.

В легких определяли содержание глюкозы и гликогена ортотолуидиновым методом [15], лактата — энзиматическим методом [1], пирувата — по [2]. В цитоплазматической фракции гомогенатов легких устанавливали активность ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) по [17], НАД- и НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы (НАД-МДГ и НАДФ-МДГ соответственно), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г-3-ФДГ), глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (ГА-3-ФДГ) — спектрофотометрически [4, 5, 12]; активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), пируваткиназы (ПК), аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспаратаминотрансферазы (АсАТ) — колориметрическими методами [3, 11, 22].

Активность дегидрогеназ выражали в микромолях восстановленного пиридиннуклеотида (НАД·Н или НАДФ·Н), активность аминотрансфераз — в микромолях преобразованного субстрата за 1 мин инкубации в расчете на 1 г белка. Белок определяли по Лоури [18]. Статистическую обработку результатов проводили с применением *t*-критерия Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

Как видно из табл. 1, в легких интактных крыс содержание лактата превышало суммарную концентрацию глюкозы и гликогена, что указывает на высокую аэробную продукцию лактата не только из углеводов, но и из других источников и прежде всего из аланина, о чем свидетельствуют высокие активности АлАТ и ЛДГ. Сравнение активностей ферментов, конкурирующих за внемитохондриальный НАД·Н (ЛДГ, Г-3-ФДГ, ГА-3-ФДГ, НАД-МДГ), показало, что окисление восстановленного пиридиннуклеотида в легких происходит преимущественно в реакциях, катализируемых ЛДГ и НАД-МДГ. Низкая активность цитоплазматических Г-3-ФДГ и НАДФ-МДГ является показателем малой эффективности глицерофосфатной и малатаспартатной челночных систем, обеспечивающих транспорт водорода из цитоплазмы в митохондрии альвеолоцитов.

Показано, что при остром охлаждении крыс-самцов в легких реципрокно изме-

нялось содержание гликогена и свободной глюкозы. Высокая концентрация последней (229% от контроля) при достоверном снижении содержания лактата свидетельствует не только о низкой интенсивности гликолиза, но и об усилении «захвата» легкими глюкозы из крови, где уровень ее в этих условиях возрастал. Незначительное активирование при охлаждении Г-6-ФДГ не обеспечивает при этом выравнивания концентрации глюкозы, однако способствует пополнению фонда НАДФ·Н, используемого в реакциях восстановительного синтеза и в первую очередь образования жирных кислот — компонентов поверхностно-активных фосфолипидов сурфактанта легких.

Под влиянием охлаждения в цитоплазме снижалась активность ферментов челночных систем транспорта водорода: НАД-МДГ (более чем в 2 раза), Г-3-ФДГ и АсАТ (на 25 и 36% соответственно). Можно полагать, что в условиях однократного охлаждения окисление образующегося НАД·Н осуществляется преимущественно в лактатдегидрогеназной реакции, поскольку активность ЛДГ превышала почти вдвое суммарную активность других цитоплазматических дегидрогеназ, конкурирующих за восстановленную форму этого кофермента.

Данные, полученные при охлаждении крыс-самок в фазе эструс полового цикла, характеризуемой максимальной продукцией эстрогенов, показали, что изменения метаболизма углеводов в легких животных этой группы значительно отличались от сдвигов, которые были выявлены у самцов. Так, у самок концентрация глюкозы снижалась с  $1,26 \pm 0,14$  до  $0,89 \pm 0,11$  мкмоль/г ( $P < 0,05$ ), содержание пирувата возрастало почти на  $1/3$  (с  $0,29 \pm 0,04$  до  $0,42 \pm 0,04$  мкмоль/г;  $P < 0,01$ ), содержание гликогена и лактата не уменьшалось, активность ЛДГ поддерживалась на прежнем, более высоком, чем у самцов, уровне ( $562 \pm 55$  ед). Эти изменения свидетельствуют об активировании гликолитического расщепления глюкозы в легких самок в условиях острого охлаждения.

Обнаружено, что при кастрации крыс-самцов в легких почти в 2 раза увеличивалось содержание гликогена и более чем на 50% возрастал уровень лактата, что обусловлено, вероятно, снижением их утилизации. Кастрация существенно не повлияла на активность изучаемых ферментов, за исключением ПК и НАД-

МДГ: активность первого фермента возросла в 1,5 раза, второго — снизилась почти на  $\frac{1}{3}$ . Кроме того, проявлялась тенденция к повышению активности Г-3-ФДГ.

Из данных табл. 2 видно, что кастрация изменяла характер метаболизма в легких при действии холодового фактора. При охлаждении кастрированных самцов в этой ткани не происходило выраженных сдвигов в содержании глюкозы и лактата, наблюдавшихся при охлаждении некастрированных самцов. Однако при сочетании влияния кастрации и охлаждения активность Г-6-ФДГ, НАД- и НАДФ-зависимой МДГ уменьшалась.

Предварительное введение кастрированным самцам тестостерона или эстрадиола оказывало выраженное нормализующее действие на активность этих дегидрогеназ при охлаждении, причем эстроген был более эффективным в отношении восстановления активности Г-6-ФДГ. Такое действие половых стероидов на активность дегидрогеназ, несомненно, способствует поддержанию равновесного отношения окисленных и восстановленных форм пиридиннуклеотидов НАД/НАД·Н и НАДФ/НАДФ·Н в цитоплазме альвеолоцитов. Введение прогестерона в отличие от действия других половых стероидов приводило к накоплению углеводных резервов (гликогена и глюкозы) и лактата. Активность аминотрансфераз аланина и аспартата, а также содержание пирувата, активно используемого для синтеза фосфолипидов сурфактанта [23], колебались незначительно у кастрированных крыс во всех изучаемых группах.

Таким образом, эстрадиол и тестостерон оказывают нормализующее действие на активность ферментов дегидрогеназных систем обмена углеводов в легких и, по-видимому, на энергетическое обеспечение метаболических функций этой ткани при однократном охлаждении организма.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Асташенкова К. Ю. — Лаб. дело, 1973, № 3, с. 186.
2. Бабавкин П. М. Способ определения пировиноградной кислоты в крови. — А. с. 877436 (СССР).
3. Кожесвицкова К. А. — Биохимия, 1973, т. 38, № 4, с. 670—676.
4. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии. М., 1980, с. 111—112.
5. Карагезян К. Г., Казарян П. А., Амир-

хонян Л. Г., Амирхонян О. М. — Вопр. мед. химии, 1976, № 1, с. 33—37.

6. Мельникова Н. В. — В кн.: ВНИИ пульмонологии. Ленинград. Выездная сессия. Материалы. Владивосток, 1972, с. 62—63.
7. Молодюк А. В., Артифесков С. В., Сиднев Б. Н. — Науч. труды Тюмен. ун-та, 1981, т. 86, с. 70—73.
8. Мосеев В. П., Мурзина Н. Б., Лито-нян Э. М. и др. — В кн.: Вопросы патогенеза и активная терапия в современной клинике. Хабаровск, 1980, с. 188—190.
9. Прибылова И. И. — Сов. мед., 1984, № 2, с. 32—36.
10. Романова Л. К., Покровская М. С. — Бюл. exper. биол., 1982 № 9, с. 97—102.
11. Рубина Х. М., Ромвничук Л. А. — Вопр. мед. химии, 1967, № 5, с. 503—507.
12. Усаненко М. С., Цончева А. В. — Там же, 1974, № 4, с. 401—405.
13. Ben-Harari R., Amit T., Youdim M. — J. Endocr., 1983, vol. 97, p. 301—310.
14. Giannopoulos G., Smith S., Sommers K. — J. Steroid Biochem., 1982, vol. 17, p. 461—465.
15. Hultman E. — Nature, 1959, vol. 183, p. 108—109.
16. Khosla S., Brehier A., Eisenfeld A. et al. — Biochim. biophys. Acta, 1983, vol. 750, p. 112—126.
17. Kornberg A., Horecker R. — Meth. Enzymol., 1955, vol. 1, p. 323—327.
18. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. — J. biol. Chem., 1951, vol. 193, p. 265—275.
19. Milewich L., Hendricks T., Johnson A. — J. clin. Endocr., 1983, vol. 56, p. 930—935.
20. Milewich L., Hendricks T., Romero L. — J. Steroid Biochem., 1982, vol. 17, p. 669—674.
21. Moser E., Daxenbichler G. — FEBS Letters, 1982, vol. 150, p. 347—353.
22. Reilman S., Frankel S. — Amer. J. clin. Path., 1957, vol. 28, p. 56—59.
23. Tierney D. F. — Fed. Proc., 1974, vol. 33, p. 2232—2237.

Поступила 16.05.84

#### ROLE OF SEX STEROIDS IN REGULATION OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN LUNG TISSUE AFTER A SINGLE TOTAL BODY COOLING

T. Yu. Lipalova, G. V. Ananyeva, E. G. Ryab-tseva, V. V. Postupaev

Medical School, Khabarovsk

A single total body cooling was found to cause a more distinct alteration in carbohydrate metabolism in lung tissue of male rats as compared with female rats. These metabolic alterations were less distinct in castrated males. Preadministration of one of the sex hormones (testosterone, estradiol or progesterone) into the castrated males led to normalisation of carbohydrate metabolism in cooling; among the sex steroids estrogen was the most effective.